

ESTUDO EXPLORATÓRIO DESCRITIVO DO EMPREGO DE COELHOS BRANCOS DA NOVA ZELÂNDIA (*Orytolagus cuniculus*) COMO MODELO ANIMAL NA AVALIAÇÃO DOS PADRÕES DE CRESCIMENTO CRANIOFACIAL

*DESCRIPTIVE EXPLORATORY RESEARCH RELATED TO THE USE OF NEW ZEALAND
WHITE RABBITS (*Orytolagus cuniculus*) AS STANDARD ANIMAL IN
EVALUATION OF CRANIOFACIAL GROWTH PATTERNS*

Cardoso, Eduardo Seixas*
Cançado, Renata Pitella**
Heitz, Cláiton***
Gerhardt de Oliveira, Marília****

RESUMO

Os coelhos brancos da Nova Zelândia são frequentemente relatados como o modelo animal selecionado para experimentos visando avaliação do crescimento craniofacial. Contudo, existe uma dificuldade de acesso às informações referentes aos cuidados no emprego destes espécimes durante trabalhos experimentais. Este estudo exploratório pretende rever a literatura, no que refere-se à seleção de um modelo animal e experimentos que envolvem o crescimento craniofacial bem como relatar os eventos de sucesso e insucesso vividos pelos pesquisadores dentro de um primeiro trabalho experimental, com um modelo animal, numa linha de pesquisa sobre o crescimento craniofacial. Lápáros (*Oryctolagus cunicullus*), em tenra idade, foram manejados dentro de uma rotina de Biotério, para um correto preparo visando à realização de uma cirurgia (experimento). Detalhes referentes ao transporte, criação, fisiologia, comportamento, acomodação, anestesia, morte e manejo de doenças são discutidos para que futuros trabalhos com o propósito de utilização deste mesmo modelo animal possam ser abreviados no seu tempo inicial de contato e reconhecimento das peculiaridades desta espécie.

UNITERMOS: coelhos; lápáros; crescimento; modelo animal; pesquisa experimental.

SUMMARY

*New Zealand White Rabbits are often related as a standard animal chosen in evaluation of craniofacial growth. Nevertheless, there are problems related to information about the care that such species demand during experimental researches. This exploratory research intends to review the literature about selecting a standard animal and experiments that are related to craniofacial growth, as well report the successes and not successes in those papers. Early age New Zealand White Rabbits (*Orytolagus cuniculus*) were handled through a Vivarium routine to be submitted to a surgery (experiment). Details related to transportation, rising, physiology, behavior, accommodation, anesthesia, death and the diseases are discussed to allow future researches with the purpose of using the same standard animal to have a shorter initial time.*

UNITERMS: rabbits; animal model; growth; experimental research.

* Doutor em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial (CTBMF) pela Faculdade de Odontologia da PUCRS.

** Doutora em CTBMF pela Faculdade de Odontologia da PUCRS.

*** Mestre em CTBMF. Doutor em Odontologia pela FO/PUCRS. Professor de CTBMF dos Cursos de Graduação e Pós-Graduação da FO/PUCRS.

**** Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em CTBMF e Ortodontia e Ortopedia Facial da FO/PUCRS.

INTRODUÇÃO

A utilização de animais de laboratório para estudos experimentais apresenta inúmeras características positivas e facilitadoras se comparadas aos experimentos em humanos. Pode-se destacar: (1) a sua fácil manutenção e observação; (2) permite que se trabalhe com uma quantidade grande de indivíduos; (3) apresenta, em geral, ciclos vitais curtos (prenhez, lactação, puberdade, etc.); (4) permite a padronização do ambiente; (5) permite a padronização genética; (6) permite transplantes ou transmissão de tumores e (7) em geral existe uma grande quantidade de informações básicas disponíveis. Também existem desvantagens no emprego dos espécimes de laboratório, em trabalhos experimentais, como: (1) vivem em ambiente totalmente artificial; (2) possuem uma dieta padronizada; (3) as doenças, quando de seu estudo, são artificialmente induzidas, na grande maioria dos experimentos (Souza,¹⁹ 1996).

No Brasil, em 1934, surgiu o Decreto nº 24.645, que assegura proteção a todos os animais sem exceção. Em 1979, este passou a forma de lei, regulamentando o registro dos biotérios e centros de experimentação e estabelecendo as penalidades aos infratores (Lei 6.638 – Diário Oficial da União – 08/05/79). Outro decreto existente no Brasil é o que estipula ser o exercício da medicina de animais de laboratório uma atividade profissional privativa do Médico Veterinário (Decreto-Lei nº 64.704 de 17/06/69, capítulo II, art. 2º, itens “c” e “d”), ou seja, todo biotério deve ter um Médico Veterinário especializado em animais de laboratório para supervisão do mesmo.

Na intenção de contribuir com uma linha de pesquisa que pretenda a avaliação dos padrões de crescimento craniofaciais, este estudo exploratório teve como objetivo verificar a viabilidade e a relevância dos procedimentos médico-veterinários a serem realizados, respeitando as características biológicas dos espécimes, na faixa etária estudada, e as características estruturais de biotério.

REVISTA DA LITERATURA

Uma grande diversidade de modelos animais pode ser encontrada na literatura, desde o início da década de setenta, quando da avaliação experimental dos padrões do crescimento craniofacial.

Sorensen et al.¹⁸ (1975), questionando a teoria de que a perda do centro de crescimento do osso mandibular (o côndilo) seria responsável por inú-

meras alterações esqueléticas faciais, realizaram um estudo experimental utilizando macacos rhesus (*Macaca mulatta*). Este mesmo modelo animal foi empregado no estudo de Yaremchuk et al.²³ (1994) na tentativa de avaliar a influência da utilização de fixação interna nos padrões normais de crescimento craniofacial.

Alhopuro,² em 1978, realizou um estudo experimental que objetivou coletar informações sobre os mecanismos de formação óssea com enxertos livres de perioste e estudar a sinostose prematura das suturas faciais. Para tal utilizou coelhos brancos da Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*) com duas semanas de vida. A partir do ano seguinte (1979), diversas pesquisas com coelhos brancos da Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*) avaliaram as alterações nos padrões do crescimento craniofacial. Os primeiros trabalhos com estes espécimes propõem-se o estudo das alterações morfológicas após a fusão prematura, experimentalmente induzida, da sutura coronal de modo bilateral (Persson et al.,¹⁶ 1979), ou unilateral (Persing et al.,¹⁵ 1986). Em 1990, Resnick et al.¹⁷ investigaram a influência dos implantes de fixação interna nos padrões de crescimento craniofacial. Utilizaram uma miniplaca de quatro furos, transversalmente fixada à sutura coronal, de modo unilateral, no mesmo modelo animal.

No ano seguinte, Babler⁴ (1992), também utilizou este mesmo modelo animal, em uma investigação na qual avaliou as alterações do padrão de crescimento após a imobilização experimentalmente, porém, induzida nas suturas fronto-nasal e lambdóide.

Complicações e mortes quando do manejo de láparos em trabalhos experimentais foram relatadas por Wong et al.²¹ (1991) e Wong et al.²² (1993), citando complicações anestésicas, desordens intestinais e problemas otológicos como as causas mais comuns de perdas e exclusões de espécimes de suas amostras.

Olfert,¹³ em 1993 informou que a ordem *Lagomorpha* utilizada na maior parte destes experimentos, contém coelhos, lebres, *cottontails* e pikas. As raças presentes atualmente para experimentação em laboratório derivam todas do coelho europeu (*Oryctolagus cuniculus*). As raças mais usadas em pesquisa incluem o coelho branco da Nova Zelândia, o Polonês, o Califórnia e o vermelho da Nova Zelândia.

Existem duas grandes desvantagens no uso de coelhos em pesquisas em modelos animais, a anestesia e o fato de que eles são infestados com um grande número de doenças espontâneas.

Pondera que os coelhos novos em um biotério devem ser submetidos a um mínimo de duas semanas de quarentena, e examinados quanto às doenças mais comuns, das quais devem ser tratados se necessário. O período de quarentena também serve como um período de adaptação para a climatização do animal as instalações e rotinas do biotério. Os animais que morrem neste período devem ser investigados através de necropsia. Coelhos adultos geralmente são acomodados em gaiolas metálicas individuais, posicionadas a uma determinada altura do solo, portanto de forma suspensa de modo que os excrementos possam cair e ficar abaixo destes.

Em relação ao ciclo circadiano e biorritmo, um período de 12-14 horas de claridade se mostra satisfatório para uma colônia. Os animais devem ser rotineiramente observados quanto ao consumo de nutrientes e características dos excrementos. Animais doentes ou mortos devem ser removidos imediatamente (Olfert,¹³ 1993).

Três fatores associados com a luminosidade são importantes para as condições ambientais: 1) duração do fotoperíodo (horas/luz × horas/escuro), 2) intensidade, expressa em *Lux* (lumens/m²) e 3) comprimento de onda ou cor, expressa em Angstroms. A luz visível estimula fotorreceptores, responsável pela fotoperiodicidade, que regula ritmos circadianos, ciclos reprodutivos, atividade locomotora, consumo de alimento e água, temperatura corpórea, toxicidade e efetividade de drogas, níveis séricos de lipídios e outros elementos (Merusse et al.,¹¹ 1996).

O contato diário com o animal diminui o estresse quando de sua manipulação. Quando da formação de grupos, existe um período inicial durante o qual eles trabalham suas relações sociais. Ocasionalmente pode haver interações agressivas, entretanto, em condições adequadas, a organização social se re-estabiliza. O bem-estar do animal estará ameaçado quando: (1) o espaço for insuficiente para que os animais mantenham uma distância mínima entre si; (2) o espaço de descanso e alimentação para todos os indivíduos for insuficiente ou alcançado às custas de concorrência; (3) reagrupamentos forem feitos com muita frequência. Os animais não devem ser mantidos isolados, a não ser que doentes, devendo assim ter no mínimo o contato visual.

É recomendável que as práticas de cuidados pré, trans e pós-operatórios sejam desenvolvidas sob a supervisão de um médico veterinário. No pós-operatório, o animal poderá voltar para a

gaiola e, se abster dos cuidados intensivos pós-operatórios, quando seu comportamento alimentar e parâmetros fisiológicos se apresentarem próximos do reconhecido como normal (Olfert et al.,¹⁴ 1993).

METODOLOGIA

O modelo animal selecionado neste estudo foi o coelho da ordem *Lagomorpha*, gênero *Oryctolagus*, espécie *Oryctolagus cuniculus*, raça Nova Zelândia, variedade branco. Foram estabelecidos ainda, os critérios de seleção dos espécimes que comporiam a amostra: sexo masculino; cinco semanas de vida (35 dias); origem dos láparos – até dois irmãos de uma mesma ninhada; nunca repetir uma mesma matriz; ausência de malformações congênitais e de feridas, à inspeção visual.

Dentro de um plantel de aproximadamente 2.000 matrizes, somente dois espécimes fossem sorteados de cada ninhada de uma matriz, nunca se repetindo uma mesma matriz. A amostra deste estudo exploratório foi composta de seis espécimes. Aqueles que adoeceram ou pereceram foram excluídos e repostos por novos láparos de mesma idade.

O grupo de seis láparos foi alojado em uma gaiola de barras de ferro entrelaçadas, suspensa a uma altura de 80 cm do solo. O modelo de gaiola adotado permite que os dejetos (fezes e urina) não se acumulem no interior da mesma. Forando o chão existe uma lona plástica recoberta com serragem estéril com o propósito de coletar e absorver os excrementos.

Desde o primeiro dia de admissão dos espécimes no Biotério, estes foram semanalmente pesados com o auxílio de uma balança. A sistemática de avaliação do peso permite uma identificação precoce dos animais que por alguma razão não se encontram no seu melhor estado de saúde. Corroborando esta proposta, as conclusões de Alberius et al.¹ (1986), descrevem que o peso corporal de coelhos está significativamente correlacionado às variações das dimensões lineares do esqueleto craniano em crescimento, assim sendo protocolou-se uma aferição rígida dos pesos de cada espécime desde a sua admissão até a época de sua morte.

Os láparos foram criados num regime de 12 horas de claridade e 12 horas de escuridão garantido por um temporizador seqüencial DGS®, em uma temperatura de 23°C (± 1°C), mantida por um ambiente climatizado e diariamente conferida

por termômetro (*Canadian Council on Animal Care*,⁷ 1993). Água e ração foram fornecidos *ad libitum* em dispensadores e bebedouros, de volume iguais, diariamente limpos e revisados.

Na primeira semana de observação, os espécimes permaneceram todos os seis juntos em uma mesma gaiola. Após o procedimento cirúrgico, cada um dos láparos foi alojado individualmente. Ao final da primeira semana, realizou-se hemograma; dosagem de glicose; tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcialmente ativada (KTTP) e parasitológico de fezes para investigar possíveis patologias concomitantes ao experimento que pudessem interferir com um crescimento sadio dos espécimes ou comprometer a cirurgia.

Na sexta semana da vida, os espécimes pesaram uma média de 655,16 gramas ($\pm 107,14$ gramas) de peso corporal. Frente a estes dados e baseado nos estudos quanto a coleta de sangue de Morton¹² (1993) verificou-se a possibilidade de uma coleta, em média, de 2,5 ml de sangue ($\pm 10\%$ da volemia total). Com o auxílio do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital São Lucas da PUCRS e dos Laboratórios Weinmann, verificou-se que a quantidade mínima de sangue necessária a realização do hemograma seria de 0,5 ml; análise bioquímica – 1,0 ml; e dosagem do TP e KTTP – 1,5 ml, exigindo uma quantidade mínima de 3,0 ml de sangue. Assim sendo, optou-se excluir os testes referentes ao TP e KTTP.

Frente às informações obtidas, escolheu-se a técnica da punção cardíaca para a coleta de amostras de sangue, recomendado pelo *Canadian Council on Animal Care*⁷ (1993) para coleta de sangue quando exigida grande quantidade. A técnica para este procedimento foi realizada conforme descrito por Birvin⁶ (1994).

O exame parasitológico de fezes foi obtido em dois momentos distintos: na manhã do dia seguinte a entrada dos espécimes, objetivando buscar as fezes produzidas na sua primeira noite no Biotério, e na manhã seguinte a primeira noite pós-operatória. Os espécimes que apresentaram indícios de infestação foram excluídos.

Somente após as duas semanas de observação e conferidos os resultados dos exames, tendo os espécimes completado sete semanas de vida, procedeu-se a cirurgia. O primeiro passo consistiu da administração profilática de Benzetacil[®] (Benzilpenicilina Benzatina 600.000 UI, Eurofarma Laboratórios Ltda., São Paulo) por via parenteral

(intramuscular) na dose de 60.000 UI/kg. No preparo para uma anestesia dissociativa, utilizou-se um miorelaxante Kensol[®] (Solução de Cloridrato de Xilazina a 2%, Laboratórios Köning S.A. do Brasil Ltda., São Paulo), na dose de 2 mg/kg de peso, e um anestésico dissociativo, Zoletil[®] (Cloridrato de Zolazepam 125 mg e Cloridrato de Tiletamina 125 mg, Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda., São Paulo) 50, na dose de 5 mg/kg de peso, ambos por via intramuscular. Todas as etapas dos procedimentos anestésicos foram supervisionados por uma Médica Veterinária, que acompanhou o pré, trans e pós-operatório. A prevenção da hipotermia é um ponto crucial para uma anestesia bem sucedida. Os efeitos adversos de um profundo declínio da temperatura corporal se traduzem pelo aumento na demanda calórica bem como redução da metabolização do agente anestésico e de sua excreção urinária. Desta forma, os animais foram posicionados em decúbito ventral sobre um colchão térmico TermWay[®] permanecendo sobre este a uma temperatura entre 30 e 35°C durante todo procedimento cirúrgico. Para minimizar os efeitos adversos de uma hipoglicemia transoperatória, suporte nutricional deve ser provido para responder às demandas calóricas. Injeções subcutâneas de 40 ml de solução de soro glicosado 5% foram administradas ao início do procedimento cirúrgico (Wixson,²⁰ 1994).

A seqüência das demais etapas cirúrgicas obedeceu aos princípios que normatizam esta prática e não serão aqui analisados por não constituírem objetivo deste trabalho.

Concluído o período de 15 dias pós-operatórios, os espécimes foram preparados para morte, seguindo as normas da *American Veterinary Medical Association*³ (2001). Utilizou-se para tanto uma injeção intracardíaca de cloreto de potássio na dose de 2 mmol/kg de peso, sob anestesia dissociativa obtida com as drogas: Kensol[®] e Zoletil[®], no dobro das doses e mesma concentração, anteriormente descritas. Devido à alta cardiotoxicidade dos íons de potássio, esta injeção deverá induzir a uma rápida e irreversível parada cardíaca.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir do presente estudo exploratório foi possível definir alguns parâmetros quando do manuseio de coelhos brancos da Nova Zelândia em fase de crescimento.

No que se refere ao alojamento dos láparos em grupos de seis numa mesma gaiola na primeira semana de admissão no Biotério, observou-se um comportamento competitivo pelo acesso a água e alimentação (um bebedouro e um coxim por gaiola), que culminou ao final da primeira semana com a morte de um espécime do grupo exploratório supostamente por desnutrição. A partir desta observação acreditamos que os animais devam ser mantidos em grupos, visto a importância deste procedimento, contudo restringindo o número de espécimes por gaiola em até três, e aumentando o acesso à água e alimentação dos mesmos.

Em relação aos exames complementares, verificou-se que a técnica da punção cardíaca revelou-se com uma morbidade indesejável. Apesar de necessária, dado ao volume mínimo de sangue requerido para a realização dos exames laboratoriais. Os animais após a punção cardíaca mostraram-se freqüentemente taquicárdicos e com redução da temperatura corporal. De uma forma genérica os espécimes estavam menos ativos, prostrados, com alguma intranqüilidade, nitidamente requerendo um maior tempo para se recuperar até que a cirurgia pudesse ser realizada. O estresse gerado pela punção cardíaca mostrou-se capaz de precipitar disfunções intestinais que se manifestaram como diarreia e desidratação, levando um animal a óbito. Em vista destas considerações, consideramos os exames laboratoriais hematológicos desaconselháveis, contudo mantém-se imperativo a coleta de fezes para exames parasitológicos. Alguns destes convivem com a microbiota entérica dos espécimes, e quando o animal se mantém sob estresse, tendem a desencadear quadros de diarreia intensa.

Em nosso trabalho, optamos por selecionar coelhos com cinco semanas de vida e operá-los na sétima. A escolha destas idades justifica-se por duas razões: a primeira se relaciona com o desmame e a segunda, com o estágio de desenvolvimento craniofacial dos coelhos. O processo fisiológico do desmame inicia-se na terceira semana da vida e só deverá terminar por volta da sexta ou da sétima (FEPLAM,⁹ 1979). Na quarta semana, os láparos modificam sua dieta, que deixa de ser exclusivamente proveniente da amamentação para passar a ser mista com a introdução do consumo de ração em determinados períodos do dia. Antes do final do desmame, os espécimes precisam ficar em grupos, enquanto que ao término deste, existe a possibilidade de alojá-los individualmente nas gaiolas. Esta forma de acomoda-

ção dos coelhos é importante, pois todos devem ter uma mesma área física para se movimentarem e igual acesso à água e à alimentação, fatores esses, que interferem diretamente na quantidade de crescimento (Alberius et al.,¹ 1986).

No que se refere ao crescimento craniofacial, alguns autores acreditam que na sétima semana da vida o desenvolvimento dos coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) corresponde aquele observado aos dois anos em humanos (Resnick et al.,¹⁷ 1990), enquanto que outros referem que a correta equivalência de idade seria ao de uma criança com apenas um ano (Wong et al.,²¹ 1991). O desenvolvimento craniofacial dos coelhos poder ser subdividido em dois picos de crescimento. Um primeiro descrito como perinatal compreendido entre nove e 30 dias de vida (Eppley et al.,⁸ 1993). Neste, o cérebro dos coelhos atinge entre 40 e 50% do seu peso adulto, sendo o período de maior crescimento craniano (Persson et al.,¹⁶ 1979). O segundo é descrito como pré-puberal compreendido entre a quarta e a vigésima semanas da vida (Alberius et al.,¹ 1986).

Harel et al.¹⁰ (1972) acreditam que na sétima semana de vida os coelhos apresentam 75% de todo o seu desenvolvimento encefálico com uma curva de crescimento semelhante àquela observada em humanos. Contudo, Eppley et al.⁸ (1993) relataram que o encéfalo dos coelhos dobra de volume nas duas primeiras semanas da vida, enquanto que em humanos o mesmo só seria alcançável ao final do primeiro semestre. Ressaltaram que, ainda que a faixa etária de interesse fosse o primeiro semestre de vida, as taxas de desenvolvimento são muito diferentes, não sendo passível de comparação.

Quando da avaliação dos efeitos da fixação interna rígida no crescimento craniano pós-natal de coelhos, analisando relatos de mortes durante a experimentação, verificou-se que nos estudos de Wong et al.²² (1993), houve a descrição de perdas, operando-se espécimes com idade entre seis e sete semanas de vida. Na primeira pesquisa, em uma amostra de 31 animais, quatro morreram, enquanto que na segunda, este número foi de oito em um grupo de 42. As causas de morte foram atribuídas a: complicações anestésicas, desordens intestinais e problemas otológicos.

Em nossa investigação, dez láparos morreram de diarreia, todos antes da cirurgia, no período ainda de adaptação ao biotério e sob estresse do transporte e do desmame. Ao consultar a literatura (*Canadian Council on Animal Care*,⁷ 1993)

verificamos que este último fator constitui-se em período crítico, no qual perdas de até 20% entre todos os nascidos de uma ninhada não são raras. As mortes geralmente estão relacionadas a quadros de enterite. Estes distúrbios intestinais em láparos são causados principalmente por enterotoxinas de dois patógenos: *Clostridium spiroforme* e *Escherichia coli*, o primeiro integrando a microbiota normal intestinal e via de regra, não causando doença. Um quadro de enteropatia mucóide foi o termo encontrado para descrever uma condição caracterizada por impacção do ceco, excreção de muco e diarreia profusa de rápida evolução.

O conhecimento das características tanto anatômicas quanto de fisiologia e comportamento de um espécime que se prestará como modelo animal dentro de uma experimentação permitirá uma redução da margem de erros, bem como a otimização do aproveitamento de cada animal. O tempo dedicado a esta etapa “exploratória” é recompensado por uma maior capacidade de entendimento de possíveis eventos complicadores que ocorram no meio do processo de investigação. Os resultados obtidos deverão ser contextualizados às peculiaridades de cada modelo animal, bem como quanto ao seu delineamento metodológico. A falta destas informações poderá comprometer o bom andamento da pesquisa e a fidedignidade de seus resultados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberius P, Selvik G, Fahlman MTE. Postnatal sutural growth of the calvarium: A survey with special reference to the rabbit. *Gegenbaurs Morph Jahrb.* 1986;132(4):519-34.
- Alhopuro S. Premature Fusion of facial Sutures With Free Periosteal Grafts: an experimental study with special reference to bone formation with free periosteal grafts from the tibia, the scapula and the calvarium. *Scand J Plast Reconstruct Surg.* 1978;(Suppl 17):1-68.
- American Veterinary Medical Association – AVMA: 2000 Report of The AVMA Panel on Euthanasia. *JAVMA.* 2001;218(5):669-93.
- Babler WJ et al. Compensatory growth following premature closure of the coronal suture in rabbits. *J Neurosurg.* 1982;57(4):535-42.
- Bable WJ. Role of cranial sutures in normal and abnormal skull development. *Neurosurgery Clinics North America.* 1991;2(3):539-49.
- Birvin WS. Basic Biometry. In: Manning PJ, Ringler DH, Newcomer C. (Ed): *The Biology of the Laboratory Rabbit*, Second edition. San Diego: Academic Press; 1994. p. 72-86.
- Canadian Council on Animal Care: Guide to the care and use of experimental animals. Ottawa: Conseil Canadien de Protection des Animaux – CCPA; 1993. v.2.
- Eppley BL, Platis JM, Sadove AM. Experimental effects of bone plating in infancy on cranio-maxillofacial skeletal growth. *Cleft Palate Craniofac J.* 1993;30(2):164-9.
- FEPLAM. Manual de cunicultura. [Porto Alegre]: [1979].
- Harel S, Watanabe K, Linke I, Schain RJ. Growth and development of the rabbit brain. *Biol Neonate.* 1972;21(5):381-99.
- Merusse JLB, Lapichik VB. Instalações e Equipamentos In: Manual para Técnicos em Bioterismo. 2ª ed. São Paulo: EPM; 1996.
- Morton B et al. Removal of blood from laboratory mammals and birds. First report of the BVA/FRAME/RSPCA/UFPAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals.* 1993;27:1-22.
- Olfert ED. Rabbits. In: Canadian Council on Animal Care: Guide to the care and use of experimental animals. Ottawa: Conseil Canadien de Protection des Animaux – CCPA; 1993. v. 2.
- Olfert ED, Cross BM, McWilliam AA. Laboratory animal facilities In: Canadian Council on Animal Care: Guide to the care and use of experimental animals. Ottawa: Conseil Canadien de Protection des Animaux – CCPA; 1993. v.2.
- Persing JA et al. Experimental unilateral coronal synostosis in rabbits. *Plast Reconstr Surg.* 1986; 77(3):369-76.
- Persson KM et al. Craniofacial growth following experimental craniosynostosis and craniectomy in rabbits. *J Neurosurg.* 1979;50(2):187-97.
- Resnick JI, Kinney BM, Kawamoto Jr HK. The effect of rigid internal fixation on cranial growth. *Ann Plast Surg.* 1990;25(5):372-4.
- Sorensen DC, Laskin DM. Facial growth after condylectomy or ostectomy in the mandibular ramus. *Oral Surg.* 1975;33(10):746-56.
- Souza NL, Merusse LB. A utilização de animais de Laboratório In: Manual para Técnicos em Bioterismo. Capítulo 1. Coordenação: Comissão de Ensino do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). 2ª ed. São Paulo: EPM; 1996. p.3-10.
- Wixson SK. Anesthesia and analgesia. In: Manning PJ, Ringler DH, Newcomer C, ed. *The Biology of the Laboratory Rabbit*, Second edition. San Diego: Academic Press; 1994. p.87-109.
- Wong L et al. The effect of rigid fixation on growth of the neurocranium. *Plast Reconstr Surg.* 1991; 88(3):395-403.
- Wong L, Richtsmeier JT, Manson PN. Craniofacial growth following rigid fixation: suture excision, miniplating, and microplating. *J Craniofac Surg.* 1993;4(4):234-44.
- Yaremchuk MJ et al. The effects of rigid fixation on craniofacial growth of *Rhesus* monkeys. *Plast Reconstr Surg.* 1994;93(1):1-10.

Recebido para publicação em: 17/10/2005; aceito em: 15/03/2006.

Endereço para correspondência:
MARILIA GERHARDT DE OLIVEIRA
Faculdade de Odontologia – PUCRS
Av. Ipiranga, 6681 – Prédio 6
CEP 90619-900, Porto Alegre, RS, Brasil
E-mail: mogerhardt@pucrs.br